



Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Matej Kovač

Student 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

BIGINELLIJEVA REAKCIJA

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Đani Škalamera

Zagreb, 2018.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

15. svibnja 2018.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

21. rujna 2018.

Mentor rada: doc. dr. sc. Đani Škalamera

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK	VII
§1. UVOD.....	1
§2. PRIKAZ TEME	3
2.1. Mehanizam Biginellijeve reakcije.....	3
2.2. Reakcijski uvjeti	5
2.2.1. Sinteza u otopini.....	5
2.2.2. Sinteza na čvrstom nosaču	6
2.3. Tipičan postupak za provođenje Biginellijeve reakcije	7
2.4. Komponente u Biginellijevoj reakciji	7
2.4.1. CH-kiseli karbonilni spojevi	7
2.4.2. Aldehidni spojevi.....	8
2.4.3. Spojevi sa strukturom sličnoj urei.....	9
2.5. Asimetrične Biginellijeve reakcije	10
2.6. Primjena produkata Biginellijeve reakcije u medicini	16
2.7. Alternativni sintetski postupci	18
2.8. Primjene u kombinatorijskoj kemiji	20
2.9. Višekomponentne reakcije slične Biginellijevoj reakciji	21
2.10. Zaključak.....	26
§3. LITERATURNI IZVORI.....	27

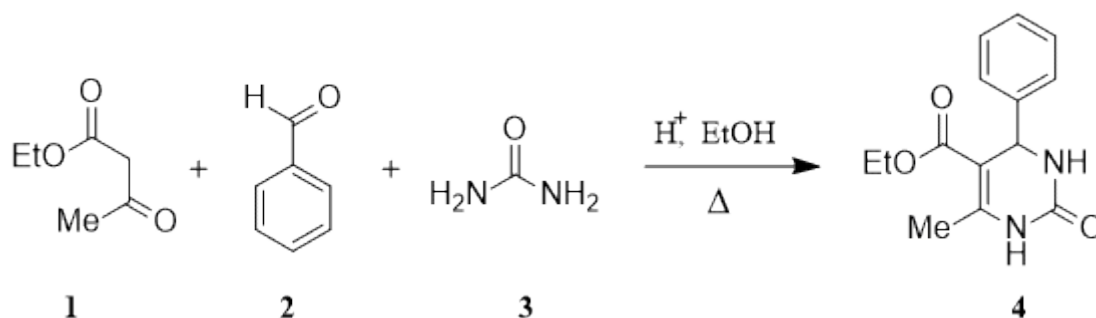
§ Sažetak

Pietro Biginelli je 1893. godine prvi puta proveo reakciju koja je kasnije po njemu dobila i ime - Biginellijeva reakcija. Radi se o višekomponentnoj reakciji, koja nalazi primjene u sintezi derivata dihidropirimidona, DHPM (engl. *dihydropyrimidone*). U reakciji se koriste tri komponente: aldehid, CH-kiseli karbonilni spoj i spoj sa strukturom sličnoj urei. Mehanizam reakcije uključuje nastajanje *N*-aciliminijevog iona, koji nastaje reakcijom aldehida i uree. Reakcijom enolnog oblika CH-kiselog karbonilnog spoja i *N*-aciliminijevog iona nastaje spoj koji daljnjom ciklizacijom i eliminacijom vode daje konačni produkt DHPM. Biginellijeva reakcija može se provesti u otopini ili na čvrstom nosaču. Produkti Biginellijeve reakcije imaju kiralni centar, jer C4 atom nastalog DHPM-a ima četiri različita supstituenta. Sintetski pripremljeni derivati DHPM-a pokazuju biološku aktivnost. U pravilu samo jedan enantiomer ima biološku aktivnost, dok je drugi neaktivan, a u nekim slučajevima može imati i suprotno djelovanje. Zbog toga danas postoje stereoselektivne metode sinteze, kojima se mogu dobiti željeni enantiomeri derivata DHPM-a. Biginellijeva reakcija se koristi i u kombinatorijskoj kemiji te su na taj način pripravljene knjižnice spojeva, kojima je ispitana biološka aktivnost i identificirana korisna komponenta knjižnice. Osim Biginellijeve, postoje i druge reakcije kojima se mogu pripremiti derivati DHPM-a, ali se manje upotrebljavaju jer su složenije od Biginellijeve reakcije.

§1. UVOD

Biginellijeva reakcija je višekomponentna reakcija (engl. *multi-component reaction*, MCR). Takve reakcije su reakcije u kojima istovremeno tri ili više reaktanata pri istim reakcijskim uvjetima daju jedan produkt. Svi koraci reakcije su u ravnoteži, osim zadnjeg koraka koji je nepovratan i u kojem nastaje jedan produkt sa složenom strukturom, koja se često bitno razlikuje od strukture reaktanata. Važnost ovakvih reakcija je i mogućnost jednostavnog kombiniranja velikog broja komercijalno dostupnih spojeva, čime se postiže još veća strukturna raznolikost i kompleksnost strukture u samo jednom koraku. Upravo zbog toga, ovakve reakcije koriste se u stvaranju knjižnice spojeva - malih molekula, posebice u sintezi derivata prirodnih spojeva i lijekova.

Talijanski kemičar Pietro Biginelli je 1893. godine na Sveučilištu u Firenci prvi proveo reakciju kondenzacije etil-acetoacetata **1**, benzaldehida **2** i uree **3**. Reakcija je provedena tako da su tri komponente otopljene u etanolu, dodana je klorovodična kiselina, koja ima ulogu katalizatora, te zagrijavanjem smjese na temperaturu refluksa dolazi do reakcije. Hlađenjem reakcijske smjese dolazi do taloženja produkta reakcije. Produkt je identificiran kao 3,4-dihidropirimidin-2-on **4**.¹ Reakcija je dobila ime po Pietru Biginelliju, koji ju je prvi puta proveo i opisao te se u današnje vrijeme zove Biginellijeva reakcija, Biginellijeva kondenzacija ili Biginellijeva sinteza dihidropirimidona.



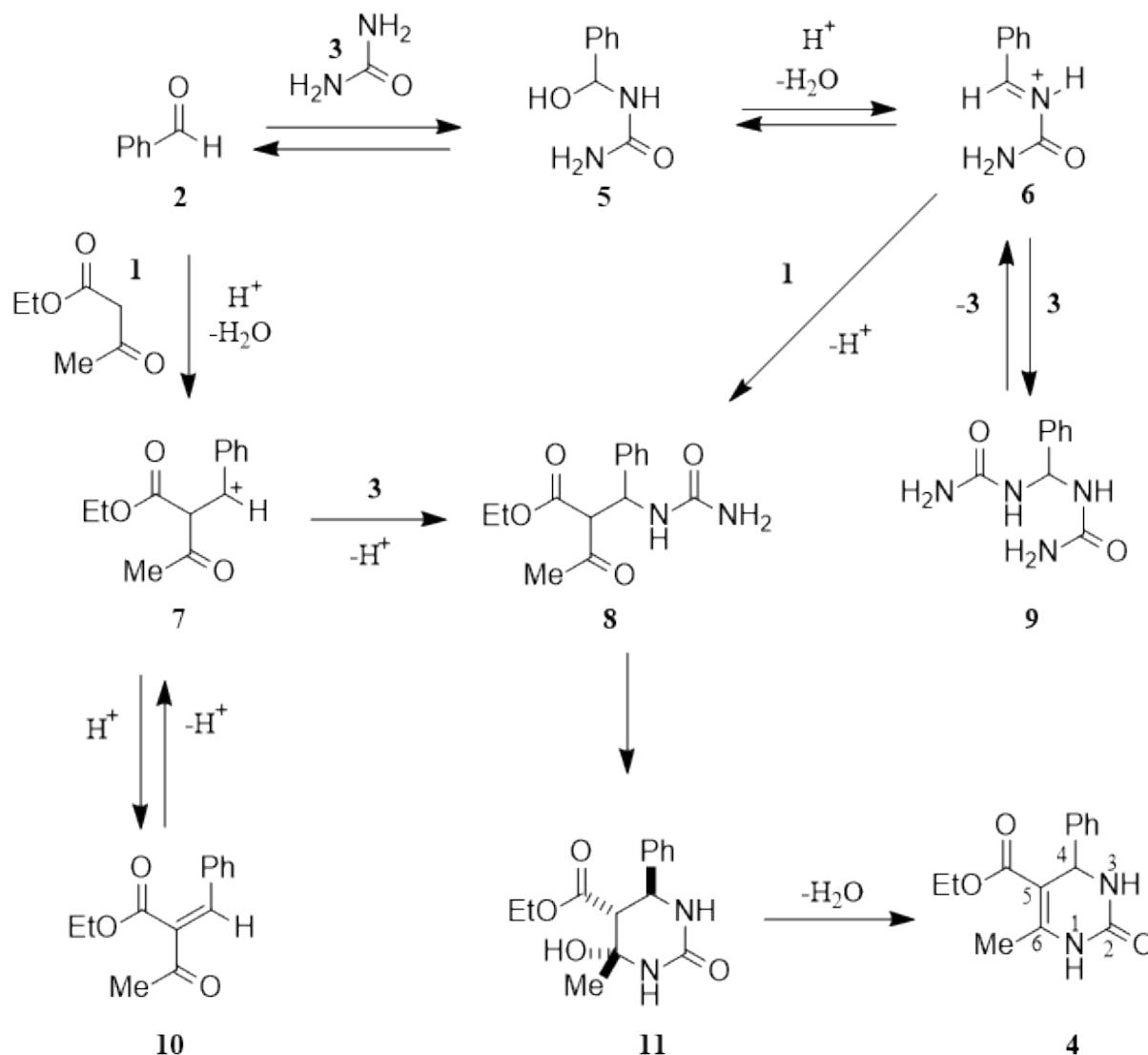
Shema 1. Biginellijeva reakcija sinteze dihidropirimidona iz 1893. godine

U početku istraživanja ove reakcije, reaktanti koji su sudjelovali u njoj bili su strukturno jako slični reaktantima iz Biginellijeve reakcije iz 1893. godine. U današnje vrijeme raznolikost svih komponenata Biginellijeve reakcije znatno se proširila te je na taj način omogućena sinteza derivata pirimidina. Biginellijeva reakcija ima veliku važnost u kombinatorijskoj kemiji. U literaturi se koristi skraćenica DHPM (engl. *dihydropyrimidone*) za ovaj poseban tip heterocikličke strukture.

§2. PRIKAZ TEME

2.1. Mehanizam Biginellijeve reakcije

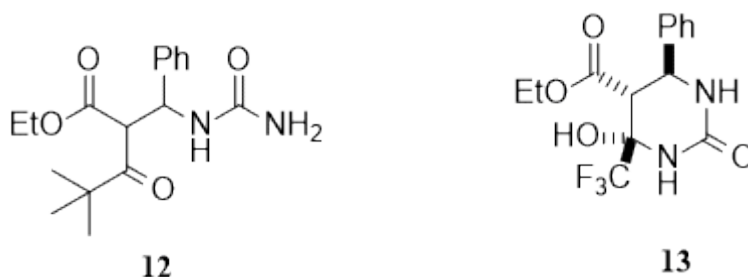
Kroz povijest je postojalo nekoliko teorija o mehanizmu Biginellijeve reakcije. Prva predložena teorija je uključivala nastanak međuprodukta reakcijom benzaldehida **2** i uree **3** (shema 2). U toj reakciji dolazi do nukleofilnog napada dušika iz uree na karbonilnu skupinu benzaldehida, što rezultira nastankom međuprodukta **5**. Zakiseljavanjem dolazi do protoniranja OH skupine spoja **5** te nakon eliminacije vode nastaje *N*-aciliminijev ion **6**. Spoj **6** može reagirati s ureom **3**. Dušik iz uree nukleofilno napada elektrofilni C atom *N*-aciliminijevog iona **6**, pri čemu dolazi do nastanka međuprodukta **9**.² U drugoj teoriji predloženo je kako najprije dolazi do reakcije benzaldehida **2** i etil-acetoacetata **1** mehanizmom aldolne reakcije katalizirane kiselinom, u kojoj nastaje spoj **7**. Nukleofilnim napadom uree **3** na spoj **7** nastaje međuprodukt **8**.³ Mehanizam reakcije je konačno utvrđen pomoću ¹H i ¹³C NMR spektroskopije. Primarno dolazi do reakcije između benzaldehida **2** i uree **3**. Dolazi do nukleofilnog napada dušika iz uree na karbonilnu skupinu benzaldehida, pri čemu nastaje spoj **5**. U kiselim reakcijskim uvjetima dolazi do protoniranja OH skupine spoja **5** te nakon eliminacije vode nastaje *N*-aciliminijev ion **6**. Enolni oblik etil-acetoacetata (tautomerni oblik) reagira sa *N*-aciliminijevim ionom **6**. Dvostruka veza etil-acetoacetata nukleofilno napada elektrofilni C atom spoja **6** i na taj način nastaje spoj **8**, koji ciklizira u spoj **11**. Kiselo kataliziranom eliminacijom vode iz spoja **11** nastaje produkt reakcije, DHPM **4**.⁴



Shema 2. Mehanizam Biginellijeve reakcije i prikaz uobičajene numeracije atoma u prstenu DHPM-a

Monosupstituirane (tio)uree također reagiraju u uvjetima Biginellijeve reakcije i kao produkti nastaju *N*1-alkilirani derivati DHPM-a, ali *N,N*-disupstituirane uree ne reagiraju. Reaktivni aciliminij ion **6** se ne može direktno identificirati kao međuprodukt. Međutim, uspješnom izolacijom međuprodukata **12** i **13** (slika 1) potvrdila se teorija o mehanizmu Biginellijeve reakcije u kojoj nastaje *N*-aciliminijev ion. *N*-Aciliminijev ion nastaje reakcijom aldehida i uree. Reakcijom enolnog oblika *CH*-kiselog karbonilnog spoja i *N*-aciliminijevog iona nastaje spoj koji daljnjom ciklizacijom i eliminacijom vode daje konačni produkt DHPM. Spoj **12** sadrži acetoacetate sa sterički zahtjevnim skupinama. Umjesto metilne skupine (CH_3) nalazi se *tert*-butilna ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) skupina koja je voluminozna i stvara steričke smetnje, pa iz spoja **12**

teško nastaje DHPM. Spoj **13** ima acetoacetatni dio supstituiran elektron-odvlačećim skupinama (CF_3 umjesto CH_3). Elektron-odvlačeće skupine posjeduju atome poput fluora, klora, broma ili joda, koji zbog svoje velike elektronegativnosti privlače elektrone s ugljikova atoma i tako na njemu smanjuju elektronsku gustoću.



Slika 1. Međuprodukti izolirani iz Biginellijske reakcije

Razumijevanje mehanizma reakcije dovelo je do razvoja novih ideja s ciljem poboljšanja učinkovitosti ove reakcije. Katalizatori koji se koriste u današnje vrijeme su većinom Lewisove kiseline koje preferiraju nastajanje *N*-aciliminij iona kao međuprodukta (npr. LaCl_3 , FeCl_3 , NiCl_2 , CoCl_2 , CeCl_3 , ZrCl_4). *N*-Aciliminij ion se stabilizira pomoću Lewisove kiseline zbog toga što dolazi do koordinacije kisika koji se nalazi na urei. Ponekad dolazi i do kelatnog povezivanja 1,3-dikarbonilnog spoja i odgovarajuće Lewisove kiseline te se na taj način stabilizira enolni tautomer.⁵

2.2. Reakcijski uvjeti

2.2.1. Sintaza u otopini

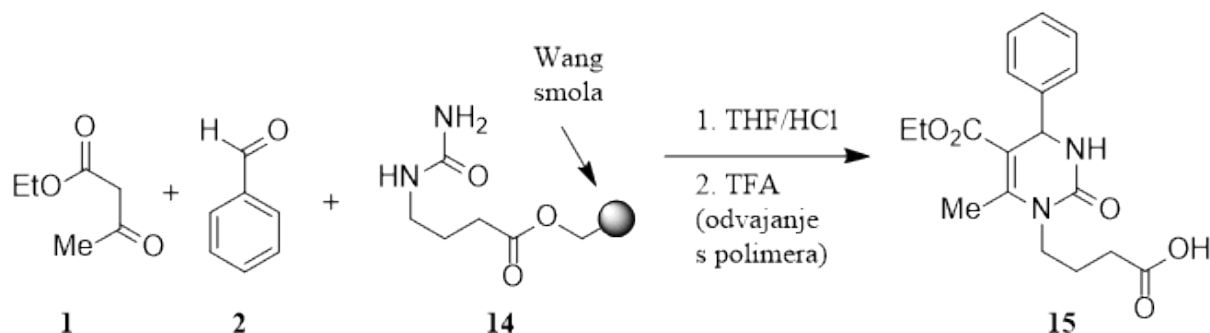
Kod sinteze u otopini pomiješaju se tri komponente Biginellijske reakcije otopljene u etanolu i doda se klorovodična kiselina te se smjesa zagrijava. Hlađenjem dolazi do taloženja produkta reakcije. Danas je poznato preko 100 reakcijskih uvjeta za Biginellijsku reakciju. Najčešće se reakcija odvija u otapalima kao što su etanol ili metanol, ali i u neprotičnim otapalima poput tetrahidrofurana i acetonitrila.⁶ Postoji i manji broj primjera gdje je korištena voda i ionska otapala.⁷ Opisane su i sinteze u kojima se koriste Brønsted–Lowry-eve kiseline kao otapala⁸ (npr. klorovodična ili sumporna kiselina), kako bi se izbjeglo taloženje slabo topljivog bisureida **9**, koji neće reagirati na ispravan način. U današnje vrijeme je sve češća upotreba Lewisovih kiselina. Koriste se soli lantanoida poput: LaCl_3 ,⁹ $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, $\text{La}(\text{OTf})_3$, CeCl_3 ,¹⁰ $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$ i SmCl_3 . Upotrebljavaju se i soli metala d-bloka poput CuCl , FeCl_3 ,¹¹ NiCl_2 , CoCl_2 , $\text{Mn}(\text{OAc})_3$, ZrCl_4 ,¹² $\text{Cu}(\text{OTf})_3$, CuCl_2 , VCl_3 , $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, ali i soli metala p-bloka

poput InCl_3 ,¹³ InBr_3 , $\text{In}(\text{OTf})_3$, BiCl_3 i $\text{Bi}(\text{OTf})_3$. Poznati su i primjeri gdje su korišteni zeoliti, ionsko-izmjenjivački materijal Amberlyst, $\text{Ag}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$, $\text{SiO}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$, amidosulfonska kiselina, CBr_4 , NH_4Cl , *p*-toluensulfonska kiselina, vinska kiselina, borna kiselina, KH_2PO_4 , KHSO_4 , CdSO_4 i jod.

Biginellijeva reakcija je pri sobnoj temperaturi spora, stoga se uobičajeno provodi pri povišenoj temperaturi kako bi se ubrzala. Reakcijska smjesa se može grijati pomoću refluxa, mikrovalnog grijanja, ultrazvuka ili pomoću infracrvenog zračenja. Poznati su i primjeri fotokemijskih reakcija, gdje je energija potrebna za reakciju dovedena u obliku elektromagnetskog zračenja.¹⁴

2.2.2. Sintaza na čvrstom nosaču

Sinteza na čvrstom nosaču uključuje vezanje jedne komponente Biginellijeve reakcije, najčešće uree ili monosupstituiranog derivata uree, na kemijski inertnu polimernu smolu. β -ketoester i aldehid se dodaju u suvišku te u prisutnosti klorovodične kiseline dolazi do kondenzacije s ureom vezanom na polimer. Produkt se odvaja od polimerne smole pomoću trifluoroctene kiseline.¹⁵ Sintaza na čvrstom nosaču omogućuje visoko iskorištenje reakcije i visoku čistoću produkata.



Shema 3. Biginellijeva reakcija na čvrstom nosaču s γ -aminobutirenskom kiselinom vezanom na Wangovu smolu

Biginellijeva reakcija se također može provesti i s fluorovom oznakom, što je varijacija sinteze na čvrstom nosaču. Fluorove oznake su modificirane verzije tradicionalnih zaštitnih skupina. One sadrže skupine s fluorom (najčešće fluor-alkilne skupine). Spojevi s fluorovom oznakom se mogu lako odvojiti od spojeva bez fluorove oznake te se mogu dodatno pročititi, pri čemu nastaju spojevi visoke čistoće. Fluorova oznaka se veže na ureu ili monosupstituirani derivat uree. Fluorirana urea se kondenzira s acetoacetatom i aldehidom

u pogodnom otapalu koje sadrži klorovodičnu kiselinu. Slijedi ekstrakcija flouriranog dihidropirimidona s flouriranim otapalom te nakon toga uklanjanje flourove oznake.¹⁶

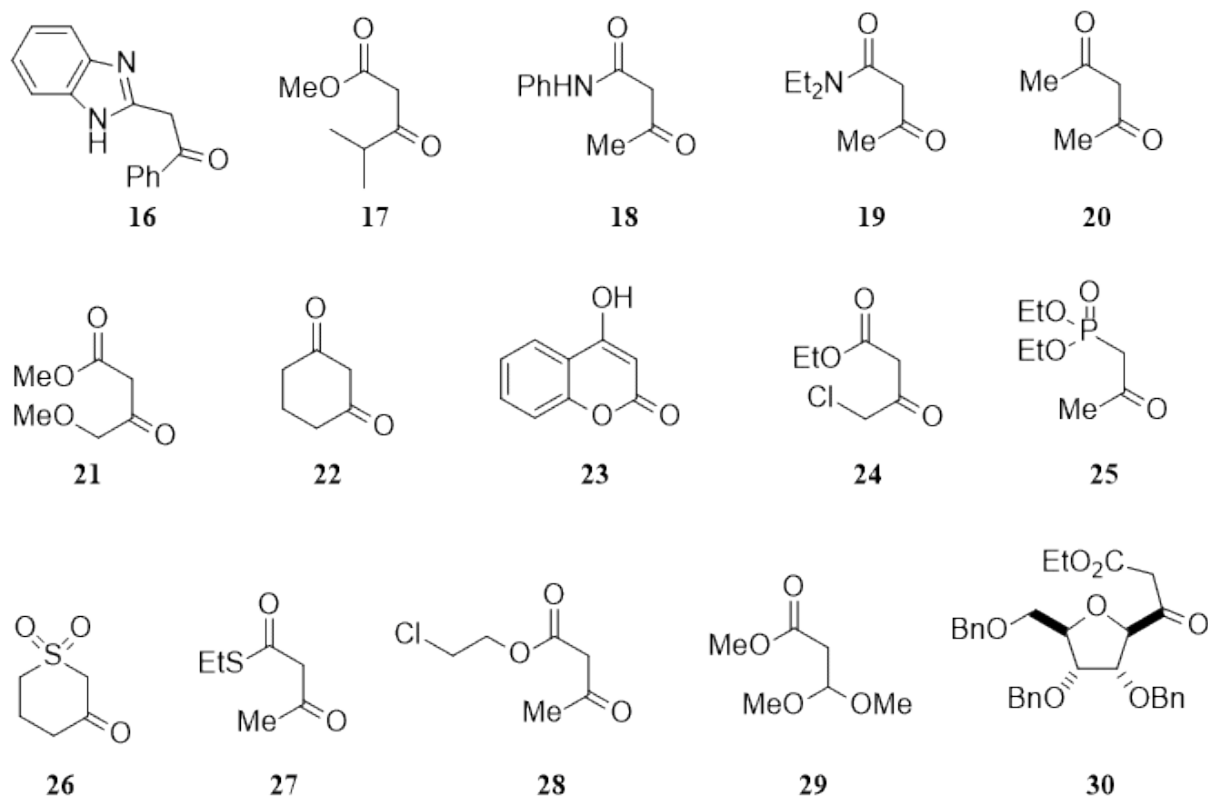
2.3. Tipičan postupak za provođenje Biginellijske reakcije¹⁷

U tikvicu s okruglim dnom (5 mL) s magnetičem i povratnim hladilom uliju se benzaldehid (127 μ L, 133 mg, 1,25 mmol) i etil-acetoacetat (242 μ L, 247 mg, 1,90 mmol), doda se urea (75 mg, 1,25 mmol) i 95 %-tni etanol (0,5 mL). Doda se jedna kap koncentrirane klorovodične kiseline te se reakcijska smjesa zagrijava 90 minuta uz povrat. Reakcijska smjesa se ohladi na 0 °C i nastali talog-produkt se izdvoji filtracijom preko Hirsch-ovog lijevka te se ispere hladnim etanolom. Ovako dobiveni produkti su obično visoke čistoće i ne zahtijevaju dodatno pročišćavanje.

2.4. Komponente u Biginellijskoj reakciji

2.4.1. CH-kiseli karbonilni spojevi

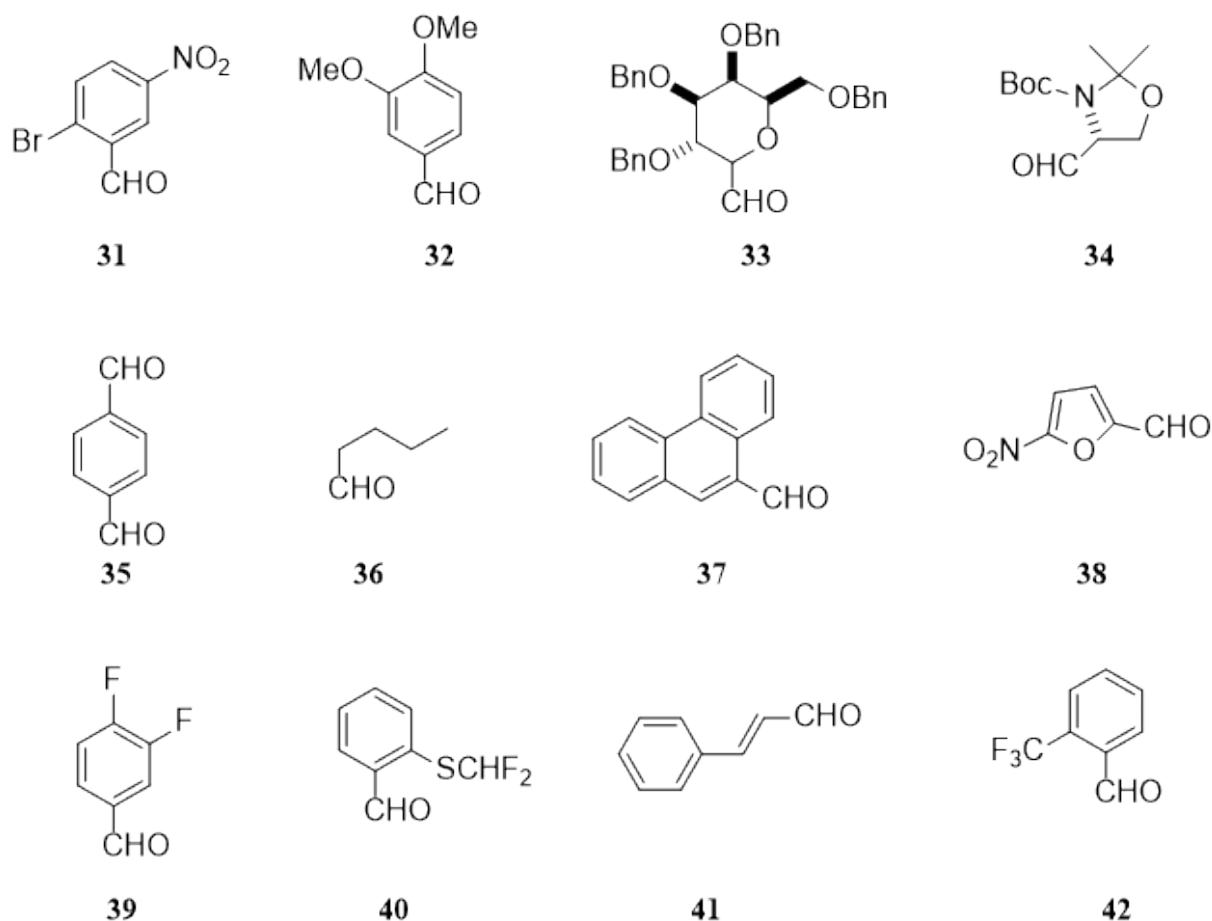
Kao CH-kiseli karbonilni spojevi najčešće se upotrebljavaju alkil-acetoacetati, 3-oksoalkanski esteri i tioesteri. Benzoilacetatni esteri se mogu upotrebljavati, ali iskorištenje reakcije je puno niže i proces kondenzacije je sporiji. Primarni, sekundarni i tercijarni acetoacetamidi se upotrebljavaju za sintezu pirimidin-5-karboksamida. Kondenzacija je moguća i s cikličkim β -diketonima poput 1,3-cikloheksadiona. Nitroaceton može poslužiti kao reaktant i u tom slučaju nastaje 5-nitro supstituirani DHPM.¹⁸



Slika 2. CH-kiseli karbonilni spojevi koji se upotrebljavaju u Biginellijevoj reakciji

2.4.2. Aldehydni spojevi

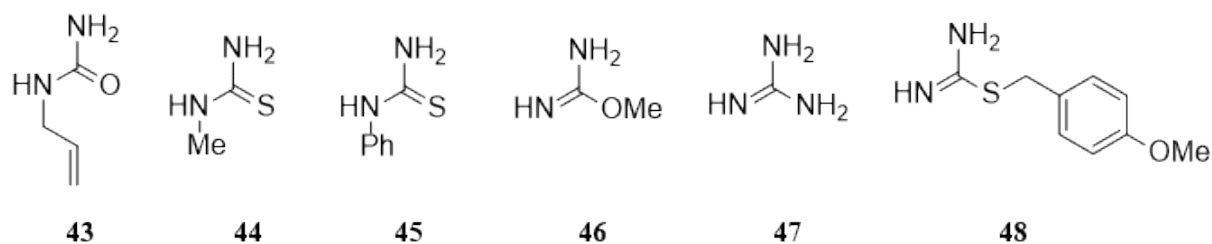
Aldehydna komponenta u Biginellijevoj reakciji može se najviše varirati. Najbolje reagiraju aromatski aldehidi. Aromatski aldehidi mogu biti supstituirani u *o*-, *m*- ili *p*- položaju s elektron-donirajućim ili elektron-odvlačećim skupinama. Dobro iskorištenje daju i heterociklički aldehidi koji su derivati furana, tiofena i piridina. Najbolja iskorištenja se postižu uz *m*- ili *p*- supstituirane aromatske aldehide s elektron-odvlačećim skupinama. Alifatski aldehidi daju puno manje iskorištenje, koje se može poboljšati uz dodatak Lewisove kiseline kao katalizatora ili uz aldehide sa zaštitnim skupinama. Sve češće se koriste maskirane aminokiseline i aldehidi koji su derivati ugljikohidrata.¹⁹



Slika 3. Aldehidni spojevi koji se upotrebljavaju u Biginellijevoj reakciji

2.4.3. Spojevi sa strukturom sličnoj urei

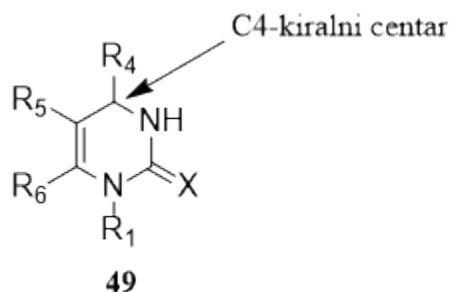
Urea je komponenta koja ima najviše ograničenja s obzirom na strukturu te je zbog toga sama urea najčešće reaktant. Monosupstituirane alkil uree općenito reagiraju dobro te nastaju N-supstituirani derivati DHPM-a u dobrim iskorištenjima. Tiouree i supstituirane tiouree reagiraju na isti način, ali je potrebno dulje vremena za reakciju i iskorištenja su niža. Može se upotrijebiti i zaštićena urea ili gvanidin u slabo bazičnim uvjetima s aldehidnom i CH-kiselom karbonilnom komponentom.²⁰



Slika 4. Spojevi sa strukturom sličnoj urei koji se koriste u Biginellijevoj reakciji

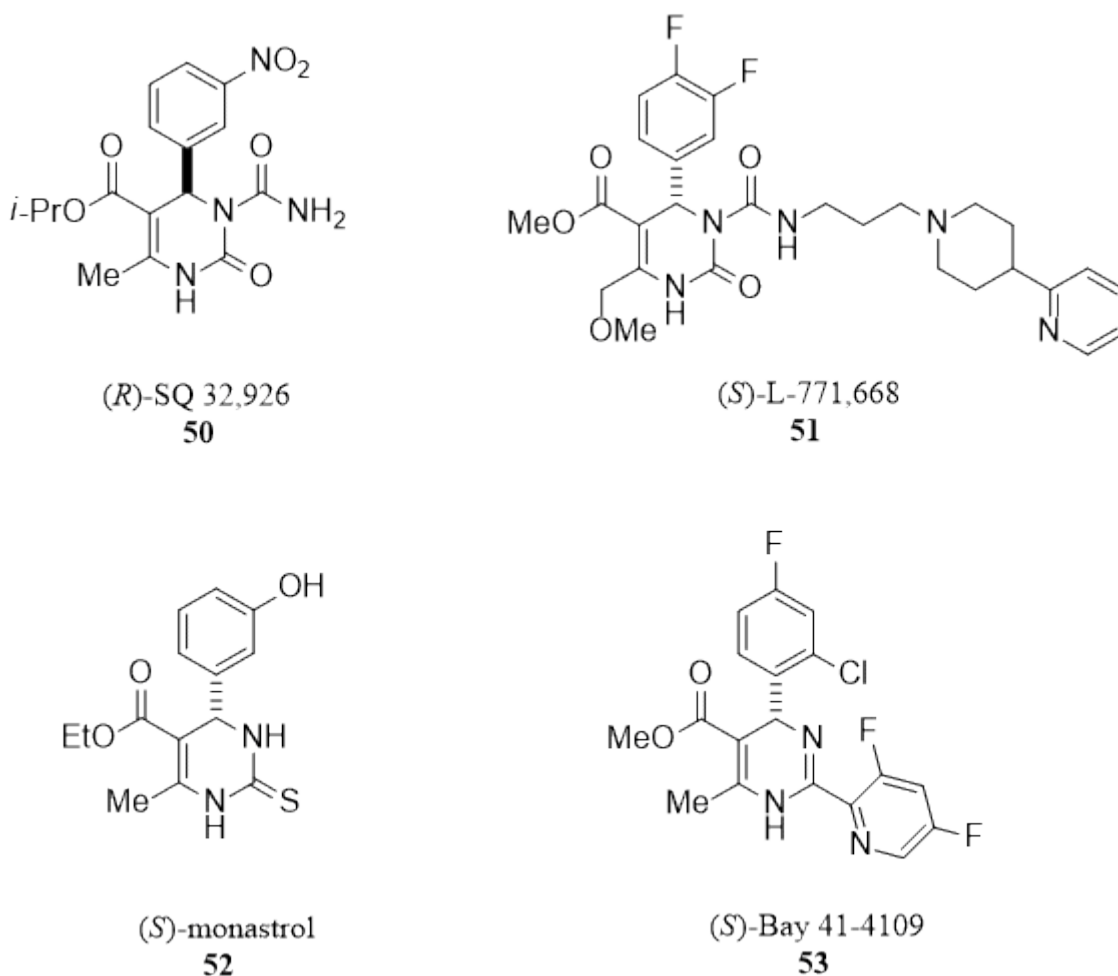
2.5. Asimetrične Biginellijske reakcije

Produkti Biginellijske reakcije imaju kiralni centar. Kiralni centar se nalazi na C atomu koji ima četiri različita supstituenta. Kod DHPM spojeva kiralni centar je na C4 atomu (slika 5).



Slika 5. Položaj kiralnog centra kod derivata DHPM-a

Utjecaj apsolutne konfiguracije na C4 atomu kod derivata DHPM-a ima značajan utjecaj na njihovu biološku aktivnost. SQ 32926 (**50**) je blokator kalcijevog kanala (slika 6) i samo (*R*)-enantiomer ima željeni učinak. (*S*)-Enantiomer receptora L-771,688 (**51**) je puno aktivniji od (*R*)-enantiomera. Nedavna istraživanja su potvrdila kako je (*S*)-enantiomer monastrola **52** puno učinkovitiji inhibitor kinezina od (*R*)-enantiomera. Bay 41-4109 (**53**) je inhibitor replikacije virusa hepatitisa B, a dokazano je da je (*S*)-enantiomer puno aktivniji od (*R*)-enantiomera.²¹

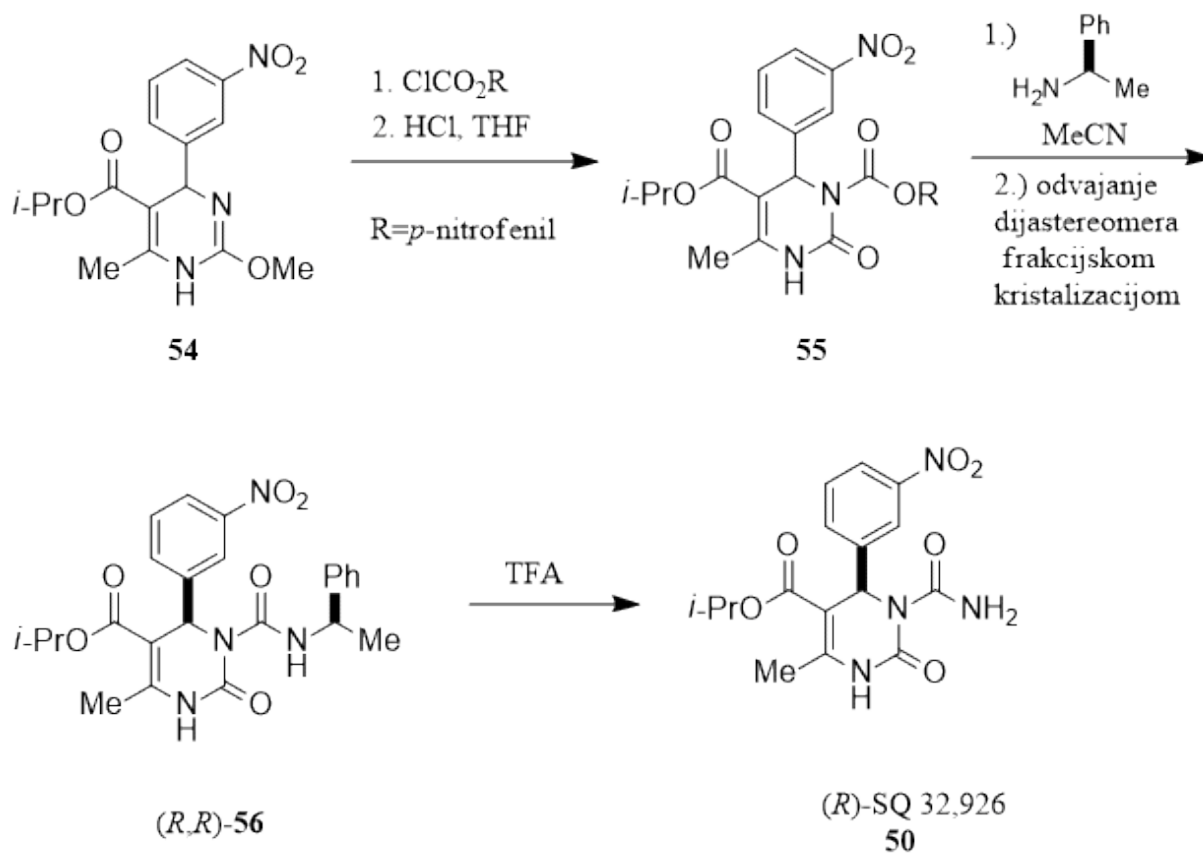


Slika 6. Derivati DHPM-a koji pokazuju značajnu biološku aktivnost

Postoji nekoliko metoda za dobivanje čistih enantiomera DHPM. Optički čisti derivati DHPM-a mogu se dobiti odvajanjem odgovarajućih racemičnih 5-karboksilnih kiselina pomoću frakcijske kristalizacije odgovarajućih diastereomernih α -metilbenzilamonijevih soli. Apsolutna konfiguracija kiselina je dokazana pomoću difrakcije rentgenskih zraka na kristalu odgovarajuće diastereomerne soli. Odvajanje se može postići i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *high performance liquid chromatography*, HPLC) pomoću različitih kiralnih stacionarnih faza (CSP) i „dizajniranih“ CSP-ova koji se temelje na principu "recipročnog" prepoznavanja. Moguće je odvajanje i kapilarnom elektroforezom na kvaternom amonijevom β -ciklodekstrinu.²²

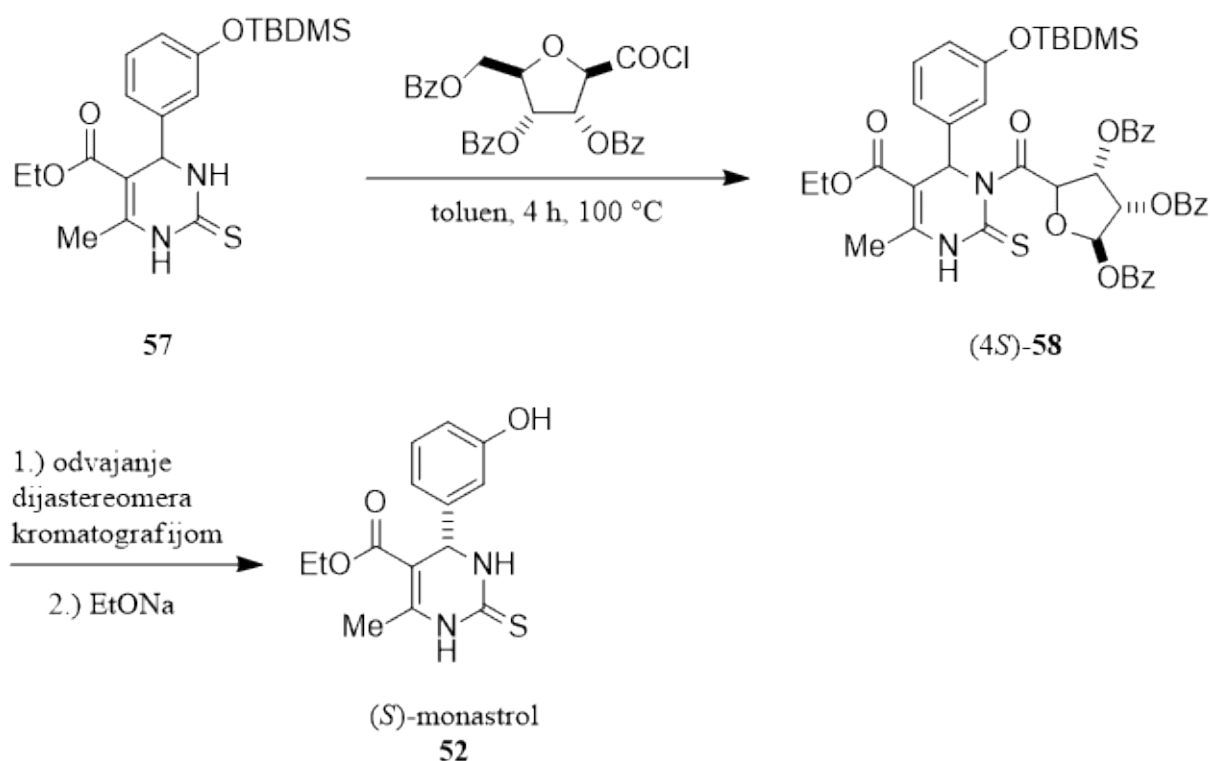
Postupak kojim se može dobiti enantiomerno čisti (R)-SQ 32926 (**50**) je prvi opisao Atwal. 1,4-Dihidropirimidinski međuprodukt **54** se acilira na N3 s 4-nitrofenil-kloroformijatom te slijedi hidroliza uz klorovodičnu kiselinu u tetrahidrofuranu, nakon koje nastaje DHPM **55**. Slijedi reakcija s (R)- α -metilbenzilaminom u kojoj nastaje smjesa diastereomera uree iz kojih je (R, R) izomer **56** odvojen kristalizacijom. Uklanjanjem fenil-

etilnog kiralnog supstituenta s ureidnog dijela pomoću trifluoroctene kiseline dobiven je enantiomerno čisti (*R*)-SQ 32926 (**50**).²³



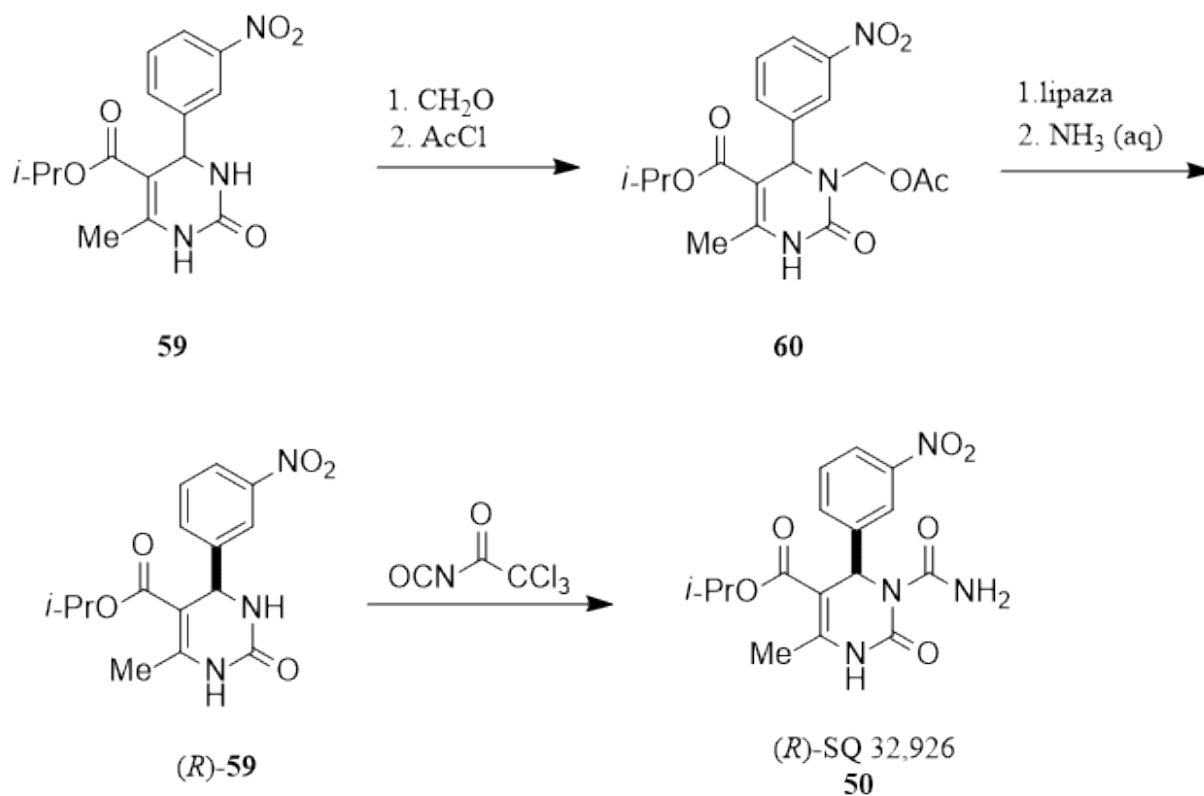
Shema 4. Razdvajanje enantiomera SQ 32926 pomoću Atwal-ove metode

Za dobivanje enantiomerno čistog monastrola **52** koristio se drugi pristup. Zaštićeni derivat monastrola **57** je acetiliran na položaju N3 s kiralnim glikozilnim kloridom karboksilne kiseline. Nastali diastereomerni amidi **58** odvojeni su kromatografijom, nakon čega je pomoću natrijevog etoksida uklonjena saharidna jedinica korištena za razdvajanje enantiomera.²⁴



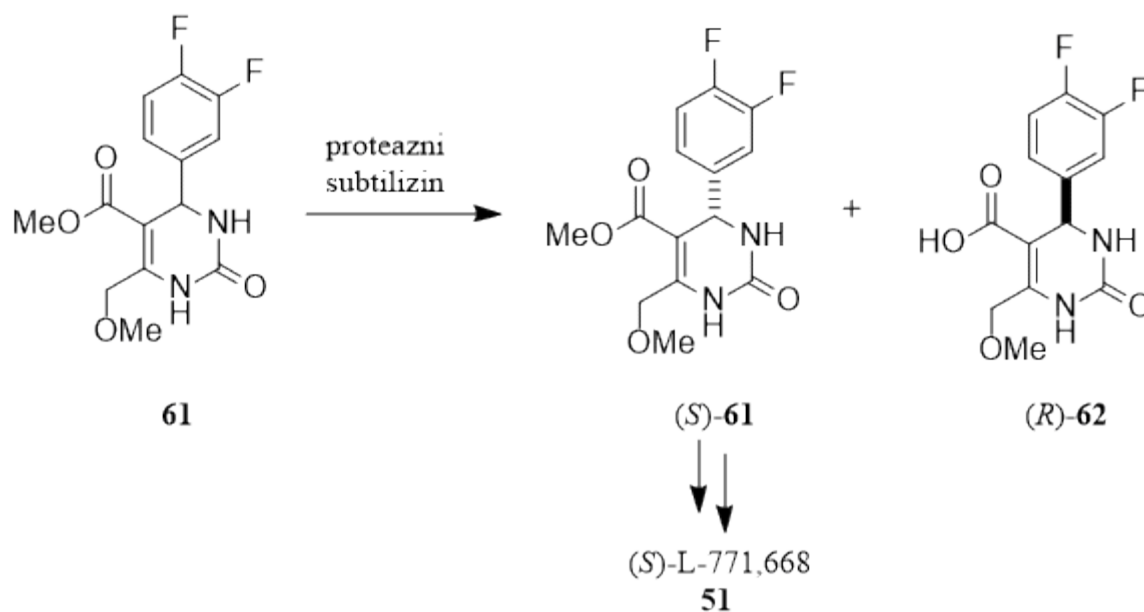
Shema 5. Razdvajanje enantiomera monastrola

Postoji i biokatalitička metoda za odvajanje enantiomera SQ 32926 (**50**). Racemični DHPM **59** je hidroksimetiliran na položaju N3 s formaldehidom, nakon čega je provedeno acetiliranje s acetil kloridom. Nastali N3-acetoksimetil DHPM **60** je zatim podvrgnut enantioselektivnoj hidrolizi pomoću lipaze *Thermomyces lanuginosus*. (*R*)-**60** s vodenom otopinom amonijaka daje (*R*)-**59**. Tako dobiveni (*R*)-**59** se karbamoilacijom na položaju N3 s trikloroacetilizocijanatom prevodi u (*R*)-SQ 32926 (**50**).²⁵



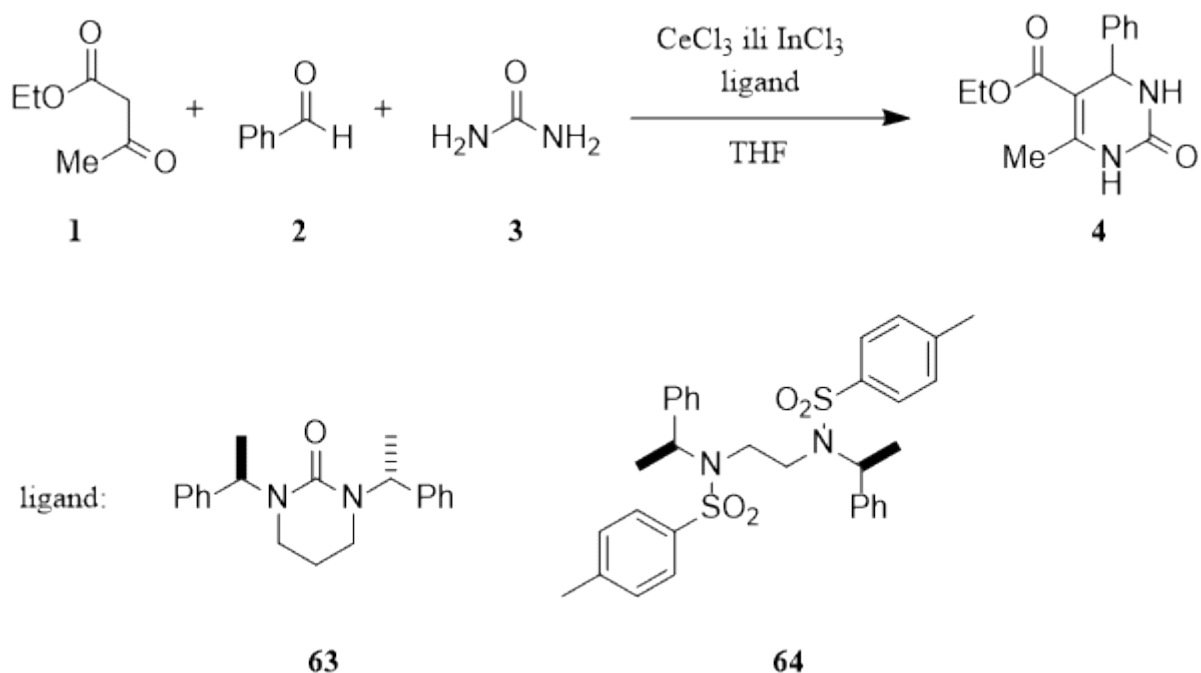
Shema 6. Biokatalitičko odvajanje enantiomera SQ 32926

Biokatalitička metoda za razdvajanje enantiomera L-771,688 (**51**) je jednostavnija. Metilni ester **61** se može selektivno hidrolizirati pomoću proteaznog subtilizina. Na taj način dolazi do hidrolize (*R*)-enantiomera. Željeni (*S*)-**61** je izoliran iz otopine i dalje obrađen do (*S*)-L-771,688 (**51**).²⁶



Shema 7. Biokatalitičko odvajanje enantiomera L-771,688

Prvi korak u razvoju enantioselektivne varijacije Biginellijeve reakcije napravili su Juaristi i suradnici 2003. godine. Oni su upotrijebili CeCl_3 i InCl_3 kao Lewisove kiseline u prisutnosti kiralnih liganada kao što su amid **63** i sulfonamid **64**. Reakcija se odvijala pri niskoj temperaturi, pod kinetičkom kontrolom, kako bi se dobila određena enantioselektivnost. Enantiomerni višak je mjera koja se definira za kiralne molekule, a pokazuje omjer enantiomera u uzorku. Enantiomerni višak za navedenu reakciju kreće se između 8 i 40%.²⁷

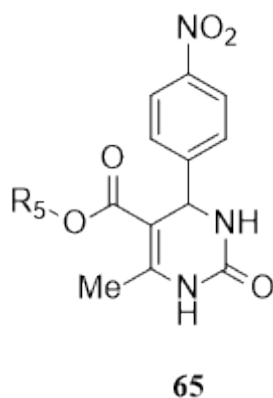


Shema 8. Enantioselektivna Biginellijeva reakcija

Nakon pripreme enantiomerno čistih spojeva, potrebno je odrediti apsolutnu konfiguraciju. Konfiguracija DHPM spojeva određuje se kombinacijom kiralnog HPLC-a i cirkularnog dikroizma (CD). Usporedbom CD spektara pojedinih DHPM spojeva s referentnim uzorcima poznate konfiguracije moguće je odrediti apsolutnu konfiguraciju.

2.6. Primjena produkata Biginellijske reakcije u medicini

Znanstvenici konstantno proučavaju sredstva koja blokiraju apsorpciju masti (triglicerida) u organizmu. Tim postupkom želi se riješiti problem pretilosti kod ljudi. Trigliceridi se hidroliziraju pomoću enzima lipaza te se oslobađaju slobodne masne kiseline. Inhibitori lipaza blokiraju hidrolizu triglicerida. Na taj način se blokira apsorpcija masti, a time i povećanje tjelesne mase. FATP (engl. *fatty acid transport protein*) spada u proteine koji sudjeluju u unosu masnih kiselina u stanice. Znanstvenici su pretpostavili kako bi inhibitori FATP-a trebali imati isti efekt kao i inhibitori lipaza - smanjenu apsorpciju masti. Dokazali su kako određeni produkti Biginellijske reakcije mogu biti inhibitori FATP-a. Mjerili su koncentracije FATP-a nakon primjene različitih produkata Biginellijske reakcije. Što je manja koncentracija FATP-a, to je pripadni DHPM spoj bolji inhibitor. Proučavali su utjecaj R₅ skupine spoja **65** na inhibitorska svojstva.



Tablica 1. Utjecaj R₅ skupine spoja **65** na koncentraciju FATP-a²⁸

Spoj	R ₅ skupina spoja 65	c (FATP) / $\mu\text{mol L}^{-1}$
65a	H	> 30
65b	CH ₂ CH ₂ SEt	1,2
65c	CH ₂ CH ₂ SOEt	> 30
65d	CH ₂ CH ₂ SO ₂ Et	> 30
65e	CH ₂ CH ₂ OEt	> 30
65f	pentil	2,0
65g	Et	9,5
65h	Me	> 30
65i	alil	1,5
65j	<i>trans</i> -2-butenil	0,65
65k	<i>trans</i> -2-pentenil	0,64
65l	<i>trans</i> -2-heksenil	0,26
65m	<i>trans</i> -2-heptenil	0,09
65n	<i>cis</i> -2-pentenil	0,70
65o	2-cikloheksenil	0,18
65p	ciklobutil	1,20
65q	ciklopentil	0,25
(S)-65q	ciklopentil	0,20
(R)-65q	ciklopentil	25,0
65r	cikloheksil	0,50
65s	cikloheptil	1,20
65t	<i>trans</i> -4-etil-cikloheksil	0,15
65u	<i>cis</i> -4-etil-cikloheksil	2,40
65v	Ph	> 30
65z	CH ₂ Ph	> 30

Neki spojevi su inaktivni, a neki su se pokazali jako aktivnim. Spoj **65a** je inaktivan, tioester **65b** je aktivan, analozi sulfoksid **65c**, sulfon **65d** i eter **65e** su inaktivni. Spoj **65f** je aktivan, dok analozi s kraćim ugljikovodičnim lancima (**65g** i **65h**) pokazuju slabiju aktivnost. Kod nezasićenih spojeva aktivnost raste porastom duljine ugljikovodičnog lanca. Kod spojeva s cikličkim supstituentom aktivnost raste do ciklopentana, a daljnjim porastom broja ugljikovih atoma u prstenu aktivnost opada. Zanimljivo je da je (*R*)-enantiomer s cikloheksanom kao supstituentom gotovo inaktivan, dok (*S*)-enantiomer pokazuje jako veliku aktivnost. Arilni spojevi ne pokazuju aktivnost.

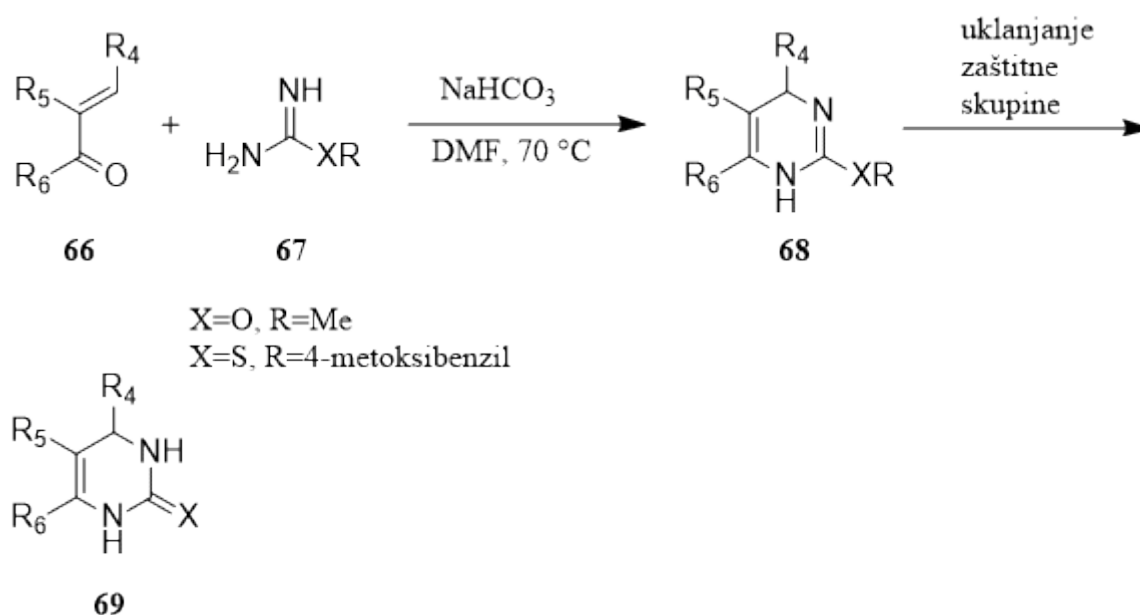
Više od 350 milijuna ljudi diljem svijeta je inficirano virusom hepatitisa B. Terapije dostupne za hepatitis B su učinkovite, ali sve imaju i prednosti i nedostatke. Trebali bi se pronaći novi lijekovi koji mogu blokirati životni ciklus virusa u fazama koje nisu povezane s virusnom polimerazom. Novi lijekovi mogu poremetiti virusni ciklus promjenom stvaranja kapsida. (*S*)-Bay 41-4109 **53** djeluje kao kapsidni protein koji na specifičan način stvara

destabilizaciju nukleacije kapside formiranjem ne-kapsidnih polimera umjesto nukleokapsida, sprečavajući formiranje čestica virusne jezgre. (S)-Bay 41-4109 je izazvao smanjenje virusne replikacije ovisno o dozi u jetri i krvnoj plazmi te smanjenoj ekspresiji proteina u jetri na kraju liječenja.²⁹

(S)-Monastrol (**52**) lako ulazi u stanice. Pretpostavka je da monastrol alosterički inhibira aktivnost ATP-aze kinezina. Hidrolizom ATP-a nastaje ADP. (S)-Monastrol stabilizira stanje u kojem je ADP vezan na enzim i usporava otpuštanje ADP-a te usporava ponovno vezanje ATP-a.

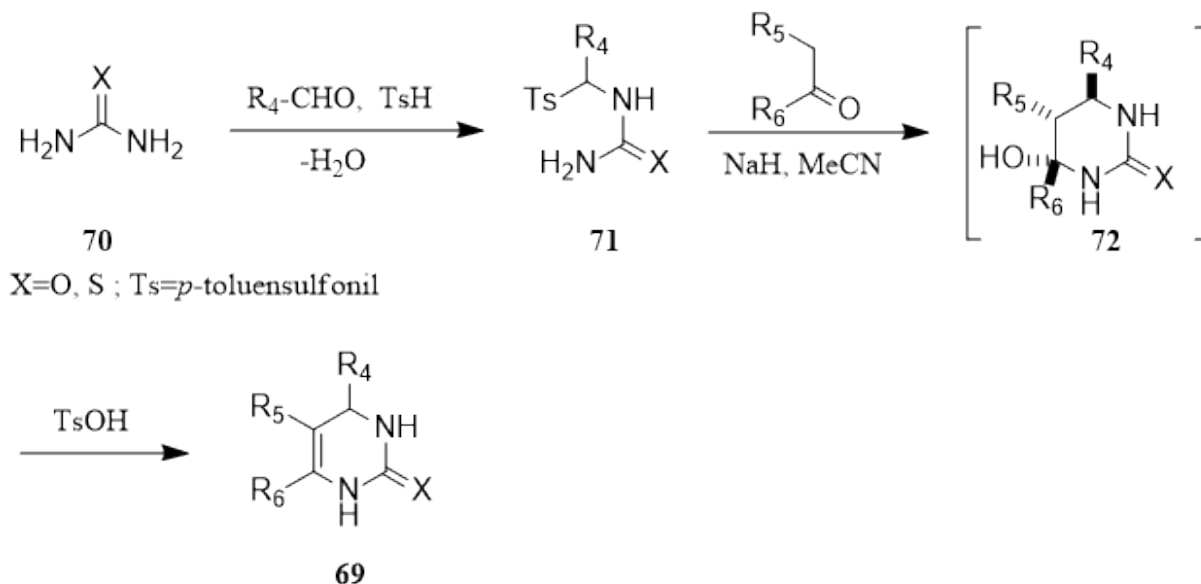
2.7. Alternativni sintetski postupci

Postoji nekoliko reakcija (osim Biginellijeve) u kojima nastaju derivati DHPM-a. Većina tih reakcija je složenija od Biginellijeve reakcije te se zbog toga i manje upotrebljavaju za dobivanje DHPM derivata. Jedna od najboljih alternativnih postupaka naziva se Atwalova modifikacija Biginellijeve reakcije. U toj reakciji enon reagira s prikladno zaštićenom (tio)ureom, nakon čega slijedi uklanjanje zaštitne skupine spoja **68** s klorovodičnom kiselinom (ako je X=O) ili s trifluoroctenom kiselinom uz prisustvo etantiola (ako je X=S), nakon čega nastaje DHPM derivat **69**. Mali nedostatak ove metode je to što se prvo mora sintetizirati enon koji ulazi u reakciju. Prednost je što se spoj **68** može acilirati regiospecifično na položaju N3, što je bitno kod određivanja apsolutne konfiguracije i odvajanja DHPM enantiomera.³⁰



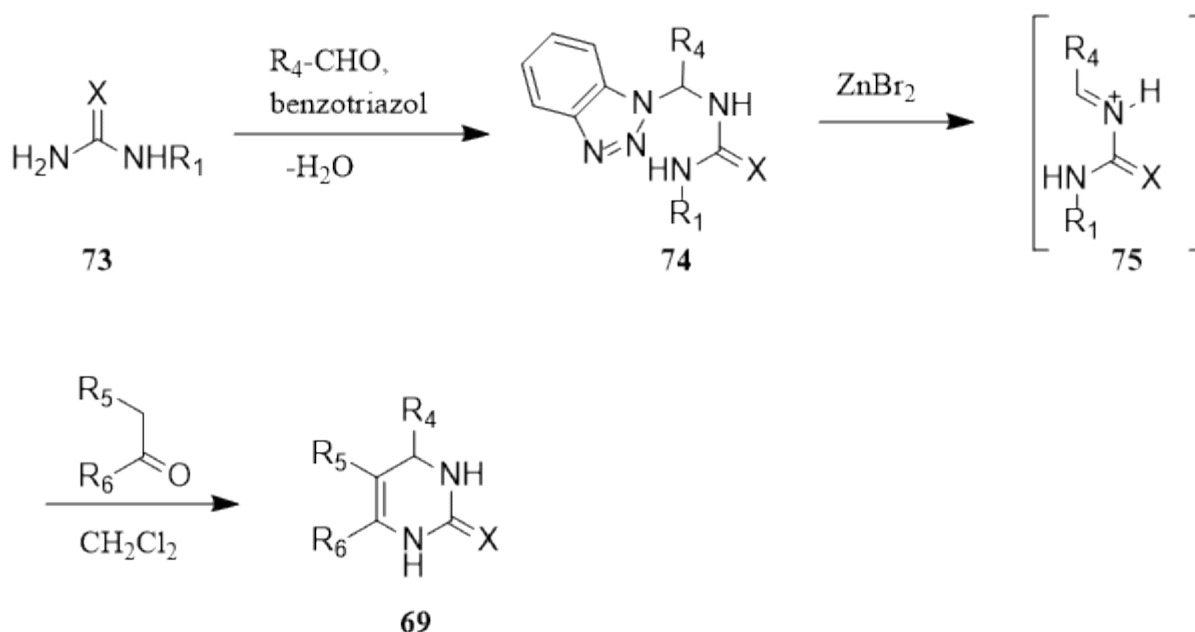
Shema 9. Atwalova modifikacija Biginellijeve reakcije

Još jedna modifikacija naslovne reakcije je Shutaleova sinteza, u kojoj dolazi do reakcije između tosila-supstituirane (tio)uree **70** i *in situ* pripremljenog enolata određenog 1,3-dikarbonilnog spoja. Nastali derivat **72** se eliminacijom vode u kiselim uvjetima prevodi u konačni DHPM derivat **69**. U ovoj metodi najviša iskorištenja daju alifatski aldehidi i tiouree.³¹



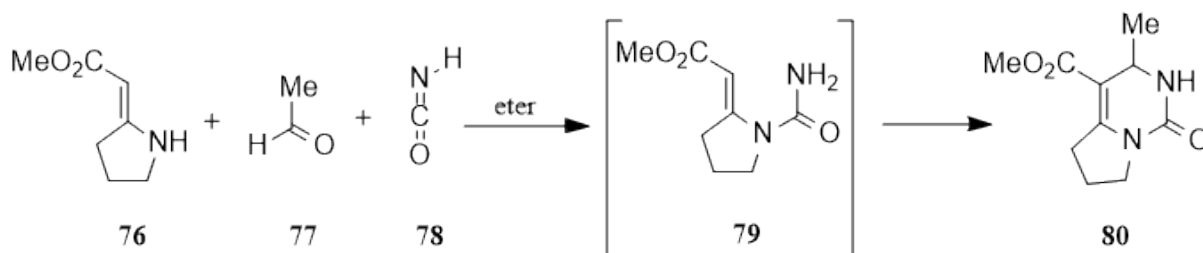
Shema 10. Shutaleva modifikacija Biginellijeve reakcije

U literaturi je opisana i sinteza u kojoj sudjeluje benzotriazol. Reakcijom aldehida, uree i benzotriazola nastaje amina **74** koji lako prelazi u *N*-aciliminijev ion **75**. Zagrijavanjem amina **74** s Lewisovom kiselinom ZnBr_2 i CH-kiselim karbonilnim spojem uz povrat dobiva se odgovarajući DHPM derivat **69**.³²



Shema 11. Modifikacija Biginellijeve reakcije s benzotriazolom

Postoje i modifikacije ove reakcije u kojima nastaju derivati bicikličkih dihidropirimidona. Reakcija se odvija u eteru bez zagrijavanja. Reakcijom enamina, acetaldehida i izocijanske kiseline nastaje biciklički dihidropirimidon **80**. Do danas nije prijavljena ni jedna modifikacija ove reakcije u kojoj nastaju monociklički derivati DHPM-a. Ova reakcija se uz određene promjene koristi pri sintezi saktitoksina koji je jaki neurotoksin.³³

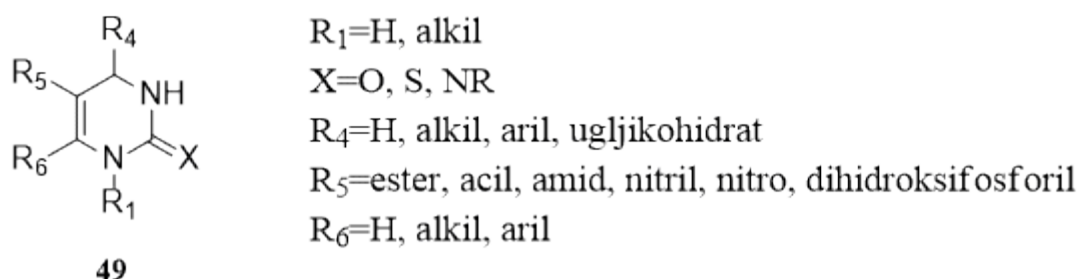


Shema 12. Modifikacija Biginellijeve reakcije u kojoj nastaju biciklički derivati dihidropirimidona

2.8. Primjene u kombinatorijskoj kemiji

Kombinatorijska kemija uključuje sintetske metode koje omogućuju pripremu velikog broja spojeva u jednom procesu. Knjižnice spojeva mogu se napraviti kao smjese ili kao komplet pojedinačnih spojeva koje generira računalni softver. Sintaza molekula na kombinatorijski način može brzo dovesti do velikog broja spojeva različite strukture. Svrha kombinatorijske kemije je pripremiti knjižnice vrlo velikog broja spojeva i identificirati korisne komponente

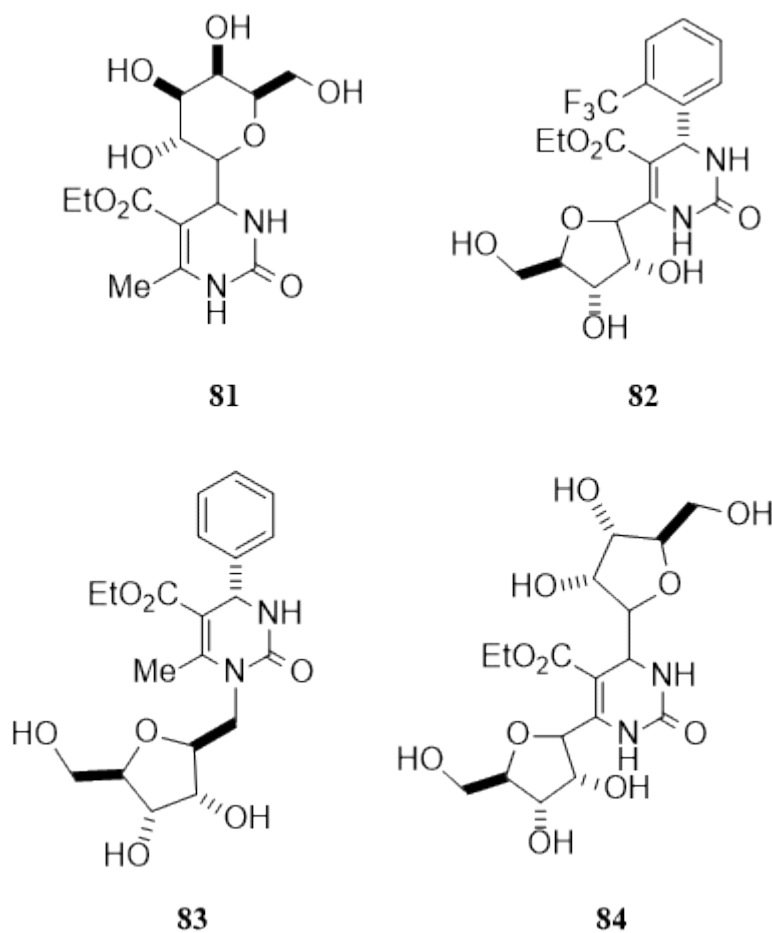
knjižnice. Postupci koji omogućuju prepoznavanje korisnih komponenti knjižnica također su dio kombinatorijske kemije. Kombinatorijske metode se dugo upotrebljavaju u sintezi i traženju farmaceutskih spojeva. Kombinatorijska kemija se sve više koristi u nekim dijelovima industrije gdje se ne traže spojevi bitno različite strukture, već se želi optimizirati postojeća struktura. Kombinatorijska kemija olakšava i ubrzava proces kod pronalaženja novih katalizatora. Postoji puno spojeva koji se mogu dobiti kombinacijom dozvoljenih komponenata Biginellijske reakcije. Kombinacijom aldehida, (tio)uree i CH-kiselog karbonilnog spoja nastaju derivati DHPM-a koji imaju strukturu spoja **49**. Kombinacijom 20 aldehida (s različitim R_4 skupinama), 10 CH-kiselih karbonilnih spojeva (s različitim R_5 i R_6 skupinama) i 5 (tio)urea (s različitim X i R_1 skupinama) nastala bi knjižnica od 1000 DHPM spojeva.³⁴



Slika 7. Kombinatorijska raznolikost DHPM spojeva koji mogu nastati Biginellijskom reakcijom

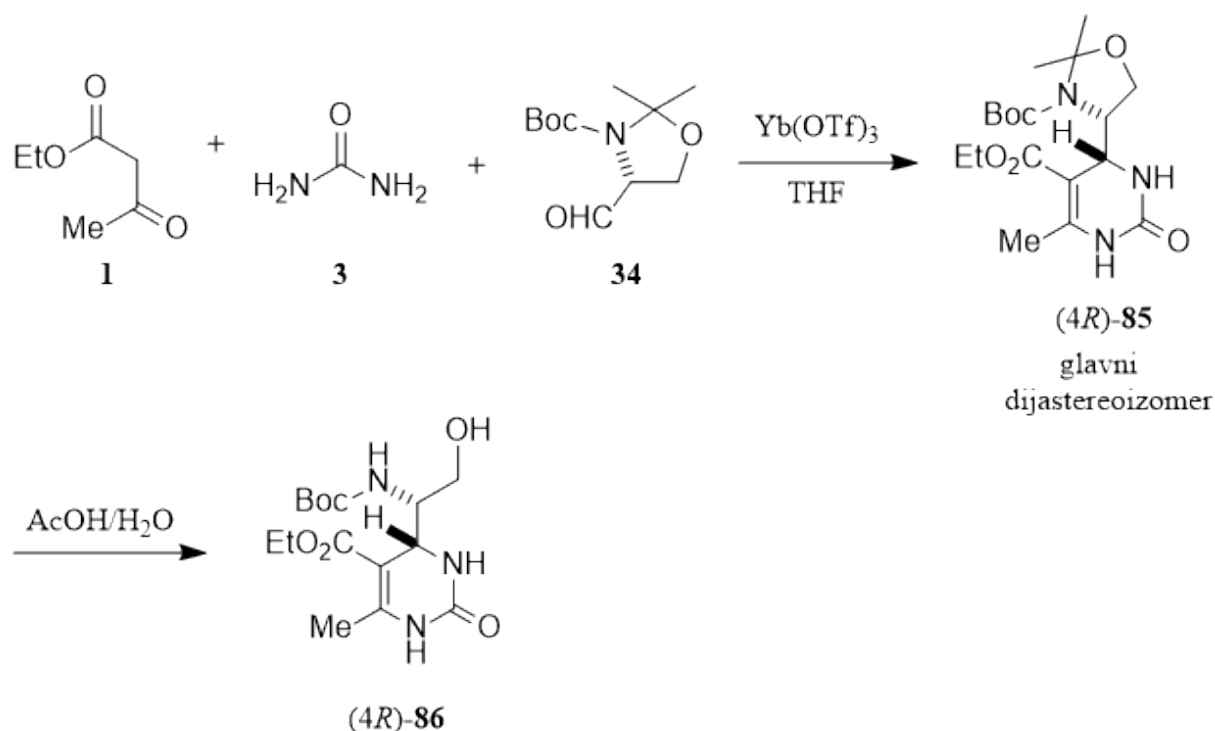
2.9. Višekomponentne reakcije slične Biginellijskoj reakciji

Postoje brojne reakcije koje su slične Biginellijskoj reakciji. Reaktanti mogu imati sličnu strukturu kao reaktanti u Biginellijskoj reakciji, ali se mogu koristiti i reaktanti s drukčijom strukturom. Produkti imaju drukčiju strukturu od Biginellijskih DHPM spojeva. Reaktanti s drukčijom strukturom koji se upotrebljavaju u Biginellijskoj reakciji su C-glikozilirani spojevi. Priređeni su mnogi derivati u kojima se ugljikohidrat nalazio na N1, C4 ili C6 položaju u monoglikoziliranim spojevima i na mjestima C4 i C6 u diglikoziliranim spojevima (slika 8). Monoglikozilirani i diglikozilirani produkti su dobiveni kao smjesa diastereomera. Postignuta je visoka enantioselektivnost zbog asimetričnog uvođenja ugljikohidrata na nastali C4 kiralni centar. Zbog raznolikosti glikoziliranih aldehida, urea i CH-kiselih karbonilnih spojeva, u kombinatorijskoj kemiji se sve više primjenjuju glikozilirani derivati DHPM-a.



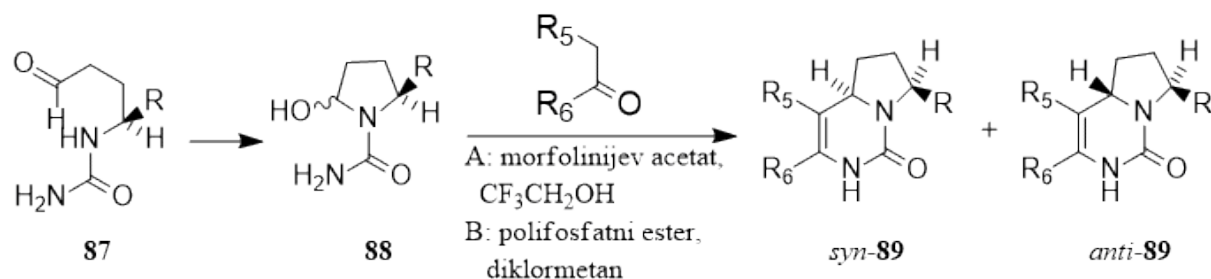
Slika 8. Monoglikozilirani i diglikozilirani derivati DHPM-a

Postoje reakcije u kojima se koristi i poseban tip aldehida koji se zove Garnerov aldehyd (**34**). Reakcijom Garnerovog aldehida, uree i CH-kiselog karbonilnog spoja nastaje produkt **85** u dobrom iskorištenju. Nastaje smjesa diastereoizomera od kojih je glavni diastereoizomer (*R*)-**85** s kiralnim centrom na dihidropirimidinskom C4 atomu. Slijedi uklanjanje zaštitne skupine te nastaje amino-alkohol **86**.³⁵



Shema 13. Biginellijska reakcija u kojoj se koristi Garnerov aldehid

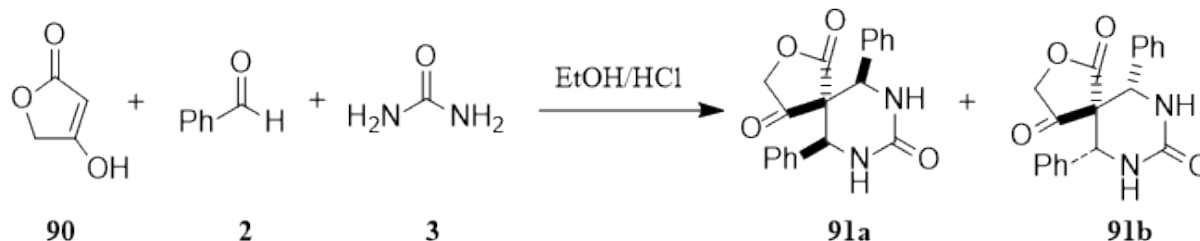
Postoje modificirane Biginellijske reakcije koje su intramolekulske. Često se nazivaju Biginellijske strateške reakcije. U tim reakcijama aldehid i urea su povezani u jedan spoj. Biginellijske strateške reakcije se koriste za sintezu raznih policikličkih gvanidijevih prirodnih spojeva za koje je poznato da posjeduju biološku aktivnost. Zajedničko svojstvo svih tih spojeva je da imaju fragment heksahidropirol[1,2-*c*]pirimidin **89**. Intramolekulskom reakcijom spoja **87** nastaje kiralni spoj **88**. Reakcijom prikladnog CH-kiselog karbonilnog spoja i spoja **88** nastaje heksahidropirol[1,2-*c*]pirimidin **89**. *syn*-**89**, odnosno *anti*-**89** mogu se dobiti upotrebom reakcijskih uvjeta A odnosno B uz visoku selektivnost.³⁶



Shema 14. Intramolekulska Biginellijska sinteza heksahidropirol[1,2-*c*]pirimidina

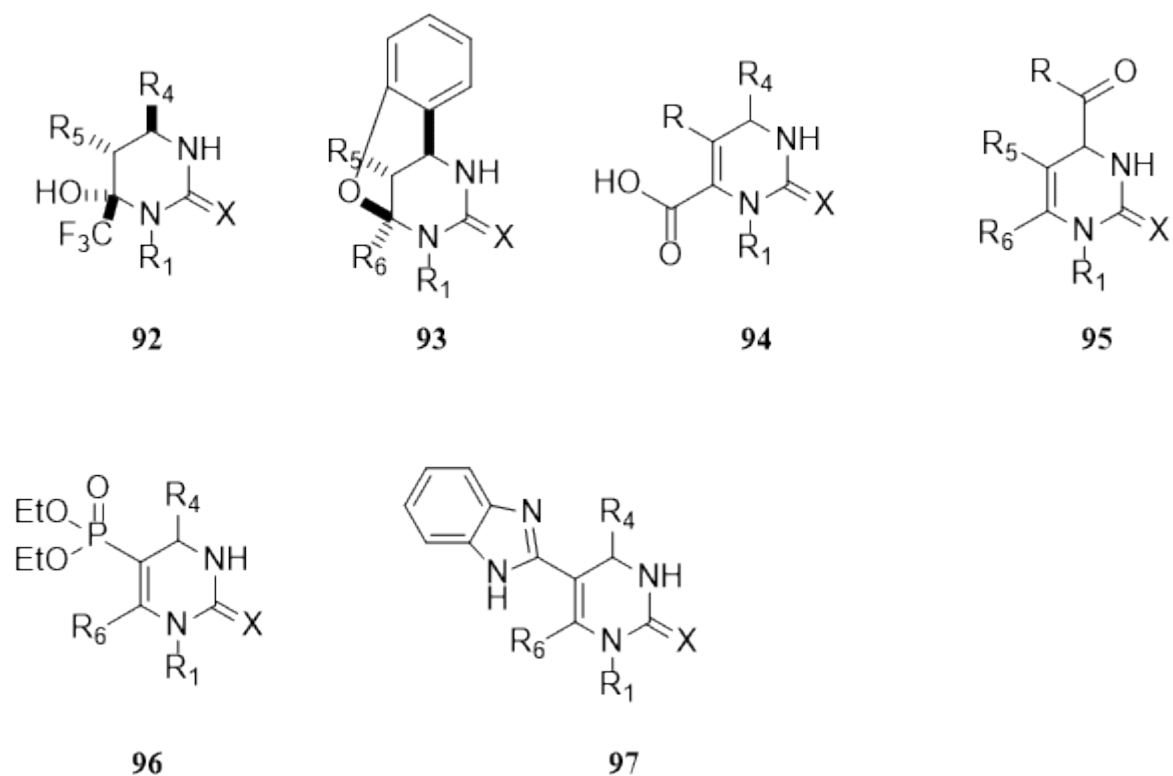
Ciklički CH-kiseli karbonilni spojevi (npr. cikloheksa-1,3-dion) reagiraju u uvjetima Biginellijske reakcije isto kao i neciklički CH-kiseli karbonilni spojevi. Tetronska kiselina

reagira drukčije - u reakciji koja ima prividno četiri komponente, a kao produkti nastaju spiro heterobiciklički spojevi. Reakcijom između tetronske kiseline, uree i dvije molekule benzaldehida ne nastaje Biginellijev DHPM produkt, već nastaju produkti **91a** i **91b** koji imaju supstituente na C4 i C6 položajima u isključivo *cis* konfiguraciji.³⁷



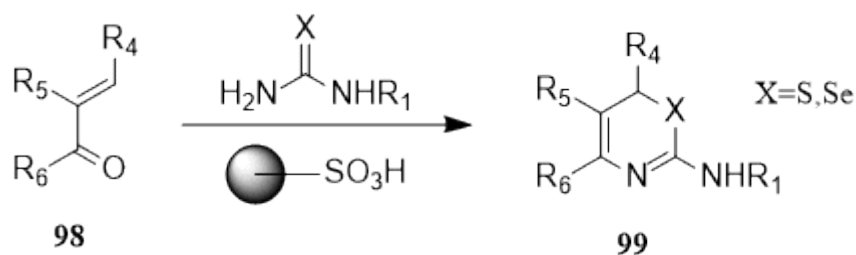
Shema 15. Reakcija s prividno četiri komponente u kojoj nastaju spiro heterobiciklički spojevi

Postoje i spojevi koji imaju neobičnu DHPM strukturu (slika 9). CH-kiseli karbonilni spojevi s elektron-odvlačećim skupinama (npr. trifluormetilnom skupinom) na R₆ položaju pretežno daju spoj heksahidropirimidin **92**.³⁸ Ako se C6 ugljikov atom iz pirimidinskog prstena nalazi u blizini OH skupine koja se nalazi u *para* položaju aromatskog prstena, tada ne nastaje klasičan DHPM spoj. Dolazi do nastanka šesteročlanog prstena unutarmolekulskom Michaelovom adicijom te nastaju produkti sa strukturom **93**.³⁹ Kao kiseli CH-karbonilni spojevi mogu se upotrijebiti i β -ketokarboksilne kiseline poput oksalotene kiseline. Najčešće se koristi 1,2-dikloretan kao otapalo, a trifluorotena kiselina kao katalizator. Ciklizacijom i dekarboksilacijom nastaje spoj **94** u visokom iskorištenju.⁴⁰ Upotrebom α -ketoaldehida nastaju spojevi sa strukturom **95**, na kojima su moguće daljnje sintetske modifikacije zbog dodatne karbonilne skupine.



Slika 9. Spojevi s neobičnom DHPM strukturom izvedeni iz reakcija sličnih Biginellijevoj reakciji

Knoevenagelovom kondenzacijom aldehida i CH-kiselog karbonilnog spoja nastaje enon. Enon u reakciji s tioureom daje spoj **99** koji je izomern s tio-DHPM spojem **49**.⁴¹



Shema 16. Reakcija enona i tiouree u kojoj nastaju izo-Biginellijevi spojevi

2.10. Zaključak

Biginellijeva reakcija je jedna od najstarijih višekomponentnih reakcija. Reakciju je otkrio Pietro Biginelli 1893. godine kao asistent profesora Uga Schiffa na Sveučilištu u Firenci. Prvih nekoliko godina nakon otkrića, provedene su reakcije na razmjerno jednostavnim spojevima, koje su rezultirale jednostavnim derivatima DHPM-a. Do danas je priređeno preko 2000 derivata DHPM-a te su nastale knjižnice takvih spojeva. Moguća je i enantioselektivna sinteza spojeva takve strukture. Danas se Biginellijeva reakcija puno upotrebljava zbog svojih prednosti (eksperimentalna jednostavnost, brzina, čistoća produkata). Farmaceutska industrija u svrhu postizanja bolje biološke aktivnosti kontinuirano istražuje nove DHPM spojeve koristeći kombinatorijsku sintezu. Biginellijeva reakcija će se i u budućnosti nastaviti istraživati i poboljšavati te će se proširiti broj priređenih spojeva kao i broj knjižnica spojeva.

§3. LITERATURNI IZVORI

1. P. Biginelli, *Gazz. Chim. Ital.***23** (1893) 360–413.
2. K. Folkers, T. B. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.***55** (1933) 3781–3791.
3. F. S. Sweet, J. D. Fissekis, *J. Am. Chem. Soc.***95** (1973) 8741–8749.
4. C. O. Kappe, *J. Org. Chem.***62** (1997) 7201–7204.
5. E. H. Hu, D. R. Sidler, U.-H. Dolling, *J. Org. Chem.***63** (1998) 3454–3457.
6. S. I. Zavyalov, L. B. Kulikova, *Khim.-Farm. Zh.***26** (1992) 116–117.
7. A. Ehsan, Karimullah, *Pakistan J. Sci. Ind. Res.***10** (1967) 83–85.
8. C. O. Kappe, *Tetrahedron* **49** (1993) 6937–6963.
9. J. Lu, Y. J. Bai, Z. J. Wang, B. Yang, H. R. Ma, *Tetrahedron Lett.***41** (2000) 9075–9078.
10. D. S. Bose, L. Fatima, H. B. Mereyala, *J. Org. Chem.***68** (2003) 587–590.
11. J. Lu, H. R. Ma, *Synlett* (2000) 63–64.
12. C. V. Reddy, M. Mahesh, P. V. K. Raju, T. R. Babu, V. V. N. Reddy, *Tetrahedron Lett.***43** (2002) 2657–2659.
13. B. C. Ranu, A. Hajra, U. Jana, *J. Org. Chem.***65** (2000) 6270–6272.
14. N. Foroughifar, A. Mobinikhaledi, H. Jirandehi, H. Fathinejad, *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.***178** (2003) 495–500.
15. P. Wipf, A. Cunningham, *Tetrahedron Lett.***36** (1995) 7819–7822.
16. A. Studer, P. Jeger, P. Wipf, D. P. Curran, *J. Org. Chem.***62** (1997) 2917–2924.
17. C. O. Kappe, *J. Org. Chem.***62** (1997) 7201.
18. N. M. Fawzy, A. H. Mandour, M. A. Zaki, *Egypt. J. Chem.***43** (2000) 401–411.
19. A. Stadler, C. O. Kappe, *J. Comb. Chem.***3** (2001) 624–630.
20. J. J. Vanden Eynde, N. Hecq, O. Kataeva, C. O. Kappe, *Tetrahedron* **57** (2001) 1785–1791.
21. Z. Maliga, T. M. Kapoor, T. J. Mitchison, *Chem. Biol.***9** (2002) 989–996.
22. F. Wang, T. D. Loughlin, T. Dowling, G. Bicker, J. Wyvratt, *J. Chromatogr.***872** (2000) 279–288.
23. K. S. Atwal, B. N. Swanson, S. E. Unger, D. M. Floyd, S. Moreland, A. Hedberg, B. C. O'Reilly, *J. Med. Chem.***34** (1991) 806–811.
24. A. Dondoni, A. Massi, S. Sabbatini, *Tetrahedron Lett.***43** (2002) 5913–5916.
25. B. Schnell, U. T. Strauss, P. Verdino, K. Faber, C. O. Kappe, *Tetrahedron: Asymmetry* **11** (2000) 1449–1453.

-
26. D. R. Sidler, N. Barta, W. Li, E. Hu, L. Matty, N. Ikemoto, J. S. Campbell, M. Chartrain, K. Gbewonyo, R. Boyd, E. G. Corley, R. G. Ball, R. D. Larsen, P. J. Reider, *Can. J. Chem.* **80** (2002) 646–652.
 27. O. Muñoz-Muñiz, E. Juaristi, *Arkivoc* **11** (2003) 16–26.
 28. N. Abumrad, C. Coburn, A. Ibrahimi, *Biochim. Biophys. Acta* (1999) 1441.
 29. J. J. Feld, D. Colledge, V. Sozzi, R. Edwards, M. Littlejohn, *A.R.* (2007) 168–177.
 30. K. S. Atwal, G. C. Rovnyak, B. C. O'Reilly, J. Schwartz, *J. Org. Chem.* **54** (1989) 5898–5907.
 31. A. D. Shutalev, E. A. Kishko, N. V. Sivova, A. Yu. Kuznetsov, *Molecules* **3** (1998) 100–106.
 32. A. A. A. Abdel-Fattah, *Synthesis* (2003) 2358–2362.
 33. H. Taguchi, H. Yazawa, J. F. Arnett, Y. Kishi, *Tetrahedron Lett* (1977) 627–630.
 34. K. Lewandowski, P. Murer, F. Svec, J. M. J. Fréchet, *Chem. Commun.* (1998) 2237–2238.
 35. A. Dondoni, A. Massi, E. Minghini, S. Sabbatini, V. Bertolasi, *J. Org. Chem.* **68** (2003) 6172–6183.
 36. A. I. McDonald, L. E. Overman, *J. Org. Chem.* **64** (1999) 1520–1528.
 37. G. Byk, H. Gottlieb, J. Herscovici, F. Mirkin, *J. Comb. Chem.* **2** (2000) 732–735.
 38. C. O. Kappe, S. F. Falsone, *Synlett* (1998) 718–720.
 39. N. Y. Fu, Y. F. Yuan, Z. Cao, S. W. Wang, J. T. Wang, C. Peppe, *Tetrahedron* **58** (2002) 4801–4807.
 40. J. C. Bussolari, P. A. McDonnell, *J. Org. Chem.* **65** (2000) 6777–6779.
 41. G. A. Strohmeier, C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43** (2004) 621–624.